

генома. Систему CRISPR/Cas9 активно применяют на ИПСК для исправления мутаций. В качестве донорной последовательности для гомологичной рекомбинации используют одноцепочечные олигонуклеотиды. Это уменьшает вероятность нецелевой активности и позволяет получить клоны с целевой встройкой в один этап.

Но прежде чем применять ИПСК в клеточной терапии у человека, следует провести доклинические исследования на модельных животных. Крысы линии Brattleboro представляют собой уникальный объект для таких исследований. Эти крысы являются моделью несахарного гипоталамического диабета. Данное заболевание вызвано аутосомно-рецессивной мутацией *di* во втором экзоне гена *Avr*, который на 96% гомологичен второму экзону гена *Oxt*. Таким образом, целью данного исследования является изучить возможность исправления мутации, которая возникла в генах, имеющих гомологи в геноме, в клетках крыс этой линии с использованием системы CRISPR/Cas9.

Был проведен анализ нуклеотидной последовательности локуса *Avr* для выбора сайтов узнавания системы CRISPR/Cas9. Затем были созданы генетические конструкции на основе плазмидных векторов, экспрессирующих элементы системы CRISPR/Cas9, и экспериментально проверена эффективность и специфичность их работы.

ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ СТАНДАРТИЗОВАННЫХ ПОЛИУРОНОВЫХ КИСЛОТ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОСОВМЕСТИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ БИОИНЖЕНЕРИИ

Малыкин Г.В., Швед Н.А., Кузнецов В.Д.

ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

grinch95vl@mail.ru

Производные полиуроновых кислот с различной степенью этерификации способны формировать гидрогели при физиологической температуре и концентрации ионов. Данные материалы являются перспективными средствами для адресной доставки лекарств и клеточных препаратов, а также могут применяться для создания матричных сред для культивирования стволовых клеток.

Были получены стандартизованные препараты производных полиуроновых кислот с различной степенью этерификации, разработан оптимальный состав инициатора гелеобразования для создания оригинальных матричных материалов, проявляющих различные свойства. Возможность использования полученных препаратов со степенью этерификации 0, 10, 30, 40, 50% для биофармацевтических и клеточных технологий исследовали на культурах нейральных стволовых клеток и культуре клеток глиомы С6 крысы.

Нейральные стволовые клетки культивировали на матричных композициях, содержащих производные полиуроновых кислот с различной степенью этерификации. Было показано, что культивирование стволовых клеток на поверхности полученных гидрогелей существенным образом предотвращает спонтанную дифференцировку клеток даже в условиях с низкой концентрацией ростовых факторов, сохраняя клетки жизнеспособными длительный период. Выявлены материалы, наиболее эффективно подавляющие дифференцировку при сохранении высокого уровня пролиферативной активности и жизнеспособности клеток, что может представлять существенный интерес для производства стволовых клеток для нужд регенеративной медицины.

В системах трехмерного культивирования клеток с применением методов высокоэффективной автоматизированной микроскопии (high content imaging) выявлена зависимость миграционной способности клеток глиомы С6, нервных стволовых клеток и их потомков от физико-химических свойств полученных материалов. Возможность регулировать скорость миграции клеток внутри гидрогелей посредством их химической модификации может стать перспективным подходом для разработки систем адресной доставки клеточных и биофармацевтических препаратов. В условиях данных экспериментальных моделей были также выявлены некоторые типы материалов, поддерживающие формирование отростков клеток нервного ряда, что представляет интерес для разработки композиционных гидрогелей, включающих адгезионные и нейротрофические факторы, для реконструктивной терапии травм мозга и создания биоискусственных аналогов нервной ткани.